この添付文書をよく読んでから使用してください。
また、必要時に読めるように保管しておいてください。

体外診断用医薬品

※※2012 年 12 月改訂(第 3 版)
※2009 年 8 月改訂(第 2 版)

※日本標準商品分類番号:87746
製造販売承認番号:22000AMX01781000

組織検査用腫瘍マーカーキット

ベンタナ I-VIEW コンファーム PGR(1E2)

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用であり、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 染色結果に基づく臨床診断は、臨床症状やほかの検査結果などと併せて、担当医師が総合的に判断してください。
3. 添付文書に記載された使用目的及び用法・用量に従って使用してください。記載された使用目的及び用法・用量以外での使用については、測定結果の信頼性を保証しかねます。
4. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読み、記載に従って使用してください。

【形状・構造等(キットの構成)】

構成試薬	成分	分量
一次抗体	抗 PGR ウサギモノクローナル抗体(1E2)	5mL(50 テスト) 25mL(250 テスト)
I-VIEW DAB ユニバーサルキット(別売り)*		250 テスト
インヒビター	過酸化水素	25mL
ビオチン標識 Ig	ビオチン標識抗ウサギ IgG ヤギポリクローナル抗体	25mL
アビジン-HRP	ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン	25mL
DAB 試薬	3-3'-ジアミノベンジジン	25mL
H2O2 試薬	過酸化水素	25mL
COPPER 試薬	硫酸銅	25mL

＊ 別売りの I-VIEW DAB ユニバーサルキット(製品番号:100032)と一緒にご使用ください。

【使用目的】

生体由来の組織又は細胞中のプロジェステロンレセプター(PGR)の検出(悪性腫瘍の診断補助等)

【測定原理】

本品は、LSAB 法に基づいた免疫組織化学染色法により、検体中プロジェステロンレセプター(PGR)の検出を行うものである。
スライド標本に一次抗体を反応させると、組織切片中に存在する PGR 抗原と結合する。次にビオチン標識 Ig を反応させ、さらにアビジン-HRP を反応させると、スライドガラス上に PGR 抗原-一次抗体-ビオチン標識 Ig-アビジン-HRP の結合物が形成される。この結合物に DAB 試薬及び H2O2 試薬を添加すると、酵素反応によりスライドガラス上の組織中にある PGR 抗原が茶褐色に染色される。染色された組織標本は病理医が鏡検し、PGR 陽性・陰性の判定を行う。

※【操作上の注意】

1. 検体にはパラフィン切片又は凍結切片を使用する。
2. 人体から採取した組織は、なるべく早く新鮮なうちに固定・切り出しを行う。
3. ホルマリン固定は室温で行う。組織容量の 15～20 倍の 10%中性緩衝ホルマリンに浸ける。
4. 2～3mm 以上の固形組織や、5mm 以上の厚さの多孔組織では、固定剤の浸透に 24 時間以上かかることがある。
5. 3mm 以下の組織では、4～8 時間の固定が望ましい。
6. 組織は 3～4μm の厚さに薄切し、スライドガラスに乗せる。
7. シラン又はポリリジンなどコーティングしたスライドガラスを使用する。
8. スライドガラスの種類や保存状態が染色結果に影響する場合がある。染色前のスライドガラスに液体カバースリップが直接つくと、染色ムラの原因になることがあるので、注意すること。
9. 本品は、既に適切な濃度に希釈されているので、希釈せずにそのまま使用すること。希釈して使用すると十分な染色結果が得られないことがある。
10. 染色を行う場合には、必ず同時に精度管理用コントロールスライドの染色を行い、染色操作が適切に行われたことを確認する。
11. 陽性コントロールは、患者検体と同一スライドガラス上に載せることが望ましい。

※【用法・用量(操作方法)】

1. 別途必要な器具・器材・試薬・自動分析装置等

- ベンタナ NX-IHC モジュールを含むベンタナ EX システムまたはベンタナ NX システム
- ベンタナ HX システムベンチマークモジュール又はベンタナ HX-ディスカバリーモジュール
- ベンタナ XT システムベンチマークモジュール XT
- ベンタナ XT システムベンチマークモジュール LT
- ベンタナ XT システムディスカバリーモジュール
- ベンタナ ベンチマーク ULTRA
- スライドバーコードラベル
- APK 洗浄液又はリアクションバッファー(精製水又は脱イオン水で 10 倍に希釈しておく)
- 液体カバースリップ又は液体カバースリップ HI
- EZ バッファー*(精製水又は脱イオン水で 10 倍に希釈しておく)
- CC1 バッファー*
- ヘマトキシリン核染色試薬 II 等*
- 炭酸リチウム試薬*
- 精製水又は脱イオン水
- 光学顕微鏡
- 染色用バット、染色かご
- キシレン、適切な濃度のアルコール(脱パラフィン、透徹用)
- カバーガラス、封入剤
- 内因性ビオチン/アビジンブロッキング試薬、イムノブロック等、検体の前処理に必要な試薬*
- その他(タイマー、キムワイプ等)
- 精度管理用コントロールスライド

*必要に応じてご用意下さい。

2. 試薬の調製方法

1. 各試薬はそのまま用いる。
2. 当社が供給する試薬は初回使用時に試薬の外箱に付いている登録ボタンを、装置の登録ワンドで読み取り、装置に登録しておく。(一度登録した試薬は、再度登録する必要はない。)
3. 必要に応じて調製したバッファー類をバッファーモジュール

の各ボトルに充填する。

4. 液体カバースリップを装置のバッファーモジュールの液体カバースリップ用ボトルに充填する。

3. スライド標本の準備

1. 適切な方法により固定、包埋した検体を薄切し、コーティングされたスライドガラスに貼り付け、スライド標本を作製する。
2. 組織切片は、スライドガラスのフロスト端から 15mm 以上、スライドガラスの端から 2mm 以上離し、なるべく中央に貼り付ける。
3. 薄切後は約 40℃で一晩、しっかり乾燥させることが望ましい。短時間で乾燥させる場合や、組織剥離防止のためにベーキングさせる場合でも、なるべく短時間(1 時間以内)で処理を行い、スライド標本をそれ以上の時間、高温に置くことは避ける。
4. 作製したスライド標本は早めに使い切ることが望ましいが、保存する際には遮光したケースに並べて冷蔵庫(2～8℃)で保管する。
5. ベンタナ NX システム又はベンタナ EX システムを使用する場合、スライド標本はマニュアルによる脱パラフィンが必要である。
   脱パラフィン例:
   キシレン(約 5 分)×2 回→100%エタノール(約 3 分)×2 回→90%エタノール(約 3 分)→80%アルコール(約 3 分)の順にスライドガラスを浸す。最後に精製水を入れたバットで約 5 分浸水させる。
6. ベンタナ NX システム又はベンタナ EX システムを使用する場合には、下記の抗原賦活化例を参考にして処理を行う。
   抗原賦活化処理例:
   染色コンテナに CC1 バッファーをスライド標本上の組織がしっかりと浸るように注ぎ、脱パラフィンしたスライド標本を入れる。
   電気圧力鍋にスライド標本を浸漬した染色コンテナを置き、「高圧、5分間」と設定し、処理を開始する。
   処理後、圧力が抜けていることを確認して(処理開始から約 30 分間要する)、染色コンテナを取り出し、室温に 30 分間放置する。
7. バーコードラベルプリンターより、染色プロトコールの番号が記載されたバーコードラベルを印刷し、スライド標本に貼付する。
8. ベンタナ NX システム又はベンタナ EX システムを使用する場合、バーコードラベルは脱パラフィン、抗原賦活化処理の後に貼付すること。
9. スライドガラスの撥水による染色不良を防ぐために、検体スライド標本を装置にセットする直前に、撥水防止処理を行ってください。
   詳細に関しては、当社カスタマーサポートセンター(TEL0120-868-555(フリーダイアル))までお問い合わせください。

4. 測定(操作)方法

本品は自動免疫染色装置を用いて操作を行う。代表的な自動免疫染色装置として「ベンタナ XT システムベンチマークモジュール XT」を使用した場合の全自動の操作方法は、以下の通りである。(詳しくは自動免疫染色装置の取扱説明書を参照すること。)

1. 装置のスイッチを入れ、WINDOWS の画面から装置のソフトウエアを立ち上げる。
2. 装置の使用説明書に従って、プロトコールを作成し、ソフトウエアに保存する。
   (1)ベンタナ HX システム又はベンタナ XT システムを使用する場合は、自動脱パラフィン及び CC1 Standard による前処理を選択する。
   (2)いずれの装置を使用する場合も一次抗体の反応時間は 16～32 分に設定する。
3. スライド標本を染色モジュールのスライドホルダーにセットする。
4. 必要な試薬を装置にセットする。
5. メイン画面の RUN をクリックする。
   (1)装置に予めセットされているバッファー類の量が十分あること(容器の半分以上)、試薬ディスペンサーキャップ及びストッパーが全て外されていることを確認するポップアップ画面が表示される。
   (2)ポップアップ画面に表示された確認事項を全て確認して全てのチェックボックスにチェックを入れ、セットしたスライド標本の枚数を入力し、START RUN をクリックする。
   染色操作の進行時間あるいは終了予定時間が画面に表示され、染色処理が開始される。
6. 染色が終了したらスライド標本を取り外し、水洗、脱水、透徹後、封入し、光学顕微鏡により鏡検を行う。

【染色結果の判定法】

判定は病理医が鏡検により行う。PGR が存在する場合、細胞核が褐色に着色される。
また背景組織における顕著な染色像がないことを確認する。
黒住ら[1]による検討結果において、カットオフ値を 5%と 10%にした場合で、ほとんど差がなかったと報告されているが、Layfield らが米国で行った ER/PGR の実施についてのアンケート調査において、34%の施設が 10%を、28%が 5%をカットオフとして採用しており[2]、米国においても判定基準がきちんと統一されていないのが現状である。黒住[1]や、梅村ら[3]の報告においても、現時点で統一した推奨スコアを提示することは困難であるとのコメントがあり、最終的な判断基準については、各施設の病理医の判断による。

【臨床的意義】

PGR は乳がん患者の予後の予測及びホルモン療法の適用の適否を診断する上で、有用な情報となる。乳がんは女性に最もよくみられる癌であるが、早期発見により適切な治療が行われれば生存率は著しく上昇する。
1967 年に Jensen らにより、乳がん組織中 ER の測定が内分泌療法効果の指標として有用であることが示唆された[4]。その後、ER、PGR がホルモン療法効果のよい指標となることが明らかとなり、進行・再発乳がんの治療のみならず術後補助ホルモン療法にも広く臨床応用されるようになった。また、ER/PGR は、予後因子としても重要であり、悪性度、生存率、転移部位などと関連があることが示されている[5]。エストロジェンレセプター(ER)は、核内に存在する受容体タンパクでエストロジェンと高い親和性をもっており、ER はエストロジェンと結合すると転写制御因子として機能し、標的遺伝子の転写を促進する[5]。
しかしながら、ER の存在はホルモン治療の効果を保証するものではなく、ER 陽性の全症例中半数はホルモン治療の効果が見られない[6][7]。変異 ER では全くエストロジェンと結合しなかったり、ホルモン治療に対する感受性が失われている原因となるシグナル変換が起きないことが提示されている。乳がん中に存在する ER の機能の評価する方法のひとつとして、ER によって制御されているタンパクであるプロジェステロンレセプター(PGR)の発現を検査する方法が ER の機能を評価するためのモニターとして使用されてきた[8]。1979 年米国保険局(NIH)は、適切な治療方法を決定するために、全ての原発性乳がんで ER の検出を実施することを推奨した。また、1985 年 NIH と米国癌学会は、乳がん患者を管理するために、乳がんのホルモン受容体の状態を検査することを支持する報告書を別々に発表した。1996 年米国臨床癌遺伝子学会の腫瘍マーカー委員の調査結果として、すべての原発性部位と治療計画に影響するかもしれない転移部位の ER と PGR の状態を検出することを推奨し、再発又は転移患者への治療の確立について及び ER/PGR の結果を使用することについても推奨した。委員会はさらに ER と PGR の状況が予後に対して演じる役割についても注目したが、ER と PGR の結果は単独では長期的後退や乳がん関連の死亡率の予後因子としては、比較的弱いものであり、他の臨床的判断基準と関連して評価すべきであると注意を促している[9]。

【性能】

1. 性能

(1) 感度試験
陽性コントロールスライドを染色するとき、明らかな特異染色像が観察される。

(2) 正確性試験
陽性コントロールスライドを染色するとき、染色されるべき細胞の背景組織には、顕著な染色像は認められない。

(3) 同時再現性試験(n=3)
陽性コントロールスライドを 3 例同時に染色するとき、3 例とも特異染色像が観察され、背景組織には顕著な染色像は認められない。

なお、陽性コントロールスライドとして患者検体から作製した PGR 陽性が確認されている組織を用いる。

2. 最小検出感度及び測定範囲

本品はスライド標本上の組織切片を検体として免疫組織染色を行うものであり、組織切片中の抗原量を正確に測定することができないため、本品の最小検出感度または測定範囲を定量的に示すことはできない。

3. 相関性試験

本品の免疫組織染色が適切なものであることを確認するために、110 例の患者から得られたスライド標本について本品と既に体外診断用医薬品として承認されている「ベンタナ PGR(1A6)」及び「ベンタナ I-VIEW コンファーム PGR」との相関性について検討を行った。

表 1. 本品と「ベンタナ PGR(1A6)」によるスライド標本の染色結果

		ベンタナ PGR(1A6)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	54	1 *1	55
	陰性	0	55	55
計		54	56	110
一致率		100%	98%	99%

*1:1 検体について染色結果に乖離が見られたが、「ベンタナ I-VIEW コンファーム PGR」による結果は PGR 陽性であった。また、乳がん組織において PGR の発現はエストロジェンレセプター(ER)の発現と強く関係しており、ER が発現していない組織において PGR が発現することは稀である [10]。そこでエストロジェンレセプターを検出する「ベンタナ ER(6F11)」を用いて染色結果に乖離が見られた検体を試験した結果、ER 陽性であった。

表 2. 本品と「ベンタナ I-VIEW コンファーム PGR」によるスライド標本の染色結果

		ベンタナ I-VIEW コンファーム PGR		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	52	3 *2	55
	陰性	0	55	55
計		52	58	110
一致率		100%	95%	97%

*2:3 検体について染色結果に乖離が見られたが、「ベンタナ PGR(1A6)」による結果はすべて PGR 陽性であった。また「ベンタナ ER(6F11)」を用いて試験した結果、すべて ER 陽性であった。

※※【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意

(1) スライド標本や試薬を取り扱っている間は、使い捨ての手袋を着用することが望ましい。

(2) スライド標本や試薬を取り扱っている場所での喫煙・飲食は避けること。

(3) スライド標本や検体は、感染性のあるものとして取り扱い、適切な予防措置をとること。

(4) 試薬、スライド標本が皮膚や粘膜に直接接触しないように注意すること。

(5) 試薬がこぼれたり、漏れたりした場合は、消毒剤及び洗浄剤できれいにふき取ること。

(6) 試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受ける。

2. 使用上の注意

(1) 試薬は必ず貯蔵方法に従って保存し、凍結させるなど指定の条件以外で保存したものや使用期限を過ぎたものは使用しないでください。

(2) 試薬を装置にセットする場合は、必ずキャップとストッパーを外してからセットしてください。

(3) 使用後の試薬は、できるだけ速やかにキャップをはめて冷蔵庫に保管してください。

(4) 試薬の継ぎ足しは行わない。

3. 廃棄上の注意

廃棄にあたっては、各施設の内部規則及び各地域により規定されている水質汚濁防止法などの規則に留意して処理する。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法

2～8℃に保存する。

2. 有効期間

18 ヶ月
(一次抗体:18 ヶ月, I-VIEW DAB ユニバーサルキット:24 ヶ月)

【包装単位】

ベンタナ I-VIEW コンファーム PGR(1E2)

1. 一次抗体
(製品番号 102333): 50 テスト 5mL×1 ディスペンサー
(製品番号 102463): 250 テスト 25mL×1 ディスペンサー

2. I-VIEW DAB ユニバーサルキット 250 テスト
(製品番号 100032)

インヒビター	25mL×1 ディスペンサー
ビオチン標識 Ig	25mL×1 ディスペンサー
アビジン-HRP	25mL×1 ディスペンサー
DAB 試薬	25mL×1 ディスペンサー
H2O2 試薬	25mL×1 ディスペンサー
COPPER 試薬	25mL×1 ディスペンサー

【主要文献】

1) 黒住 昌史:乳癌組織におけるホルモンレセプター(ER、PgR)状況のパラフィン切片による免疫組織化学的(IHC)判定の有用性と判定基準, ベンタナ・ジャパン株式会社, 2001

2) Leyfield LJ, Gupta D and Mooney MB: Assessment of Tissue estrogen and progesterone receptor levels: a survey of current practice, techniques and quantitation method. Breast J 6:: 189-196, 2000.

3)梅村しのぶ、他:「適切なホルモンレセプター検索に関する研究」班　班研究報告書. 2005
4)Hawkins R, et. al.: Estrogen receptors and breast cancer; current status. Br J Surg 37: 153, 1980.
5)園尾　博司:ホルモンレセプター(ER,PgR)測定の意義:乳癌の診断と治療－最新の研究動向－日本臨床(58):146, 2000.
6)Horwitz, K.B.: How do breast cancers become hormone resistant?, J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 49: 295-, 1994.
7)Van Agthoven, T. et. al.: Expression of estrogen, progesterone and epidermal growthy factor receptors in primary and metastatic breast cancer. Int. J. Cancer, 63: 790, 1995
8)Horwitz, K. B. et. al.: Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer; a hypothesis. Science 189: 726, 1975.
9)American Society of Clinical Oncology, Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. J. Clin. Oncol. 14; 2843, 1996
10)S-Y Leong A, Cooper K, W-M Leong FJ. Manual of Diagnostic Antibodies for Immunohistology, 2nd Edition, Greenwich Medical Media Ltd, London, England, 2003: 375-376.

【問い合わせ先】

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
カスタマーサポートセンター
〒105-0014
東京都港区芝 2-6-1
フリーダイアル:0120-868-555

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
〒105-0014
東京都港区芝 2-6-1
フリーダイアル:0120-868-555